药学实践与服务
Journal of Pharmaceutical Practice and Service
中国科技核心期刊
中国科技论文统计源期刊
中国知网、万方、维普数据库统计源期刊
CA, EBSCO, WPRIM, UPD, CMCC等收录

升陷汤及单味药材水提物对缺氧/复氧致心肌损伤的保护作用

金晓玲，陈岚，张凤，黄豆豆，廖丽娜，陈万生

Protective effect of Shengxian decoction and the decoction of single herb component against myocardial injury induced by hypoxia/reoxygenation

JIN Xiaoling, CHEN Lan, ZHANG Feng, HUANG Doudou, LIAO Lina, CHEN Wansheng

在线阅读 View online: http://yxsj.smmu.edu.cn/cn/article/doi/10.12206/j.issn.1006-0111.202006080

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

升陷汤及各单味药对阿霉素致心肌细胞损伤的保护作用

Protective effect of Shengxian decoction and each single herb component against adriamycin-induced cardiomyocyte injury

药学实践杂志. 2019, 37(4): 304-308 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2019.04.004

槟榔醇提物对H9C2心肌细胞的抗缺氧保护作用

Protective effect of areca catechu linn ethanol extract against hypoxia in H9C2 cells

药学实践杂志. 2019, 37(4): 294-298 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2019.04.002

利舒康胶囊对模拟高原缺氧动物的保护作用研究

Anti-hypoxia activity and its protective effects of Lishukang capsule on rat brain tissue at simulated high altitude hypoxia

药学实践杂志. 2018, 36(3): 255-259 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2018.03.014

复元醒脑汤对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤的保护作用研究

Protective effects of Fu-Yuan-Xing-Nao decoction for focal cerebral ischemia reperfusion injury in rats

药学实践杂志. 2018, 36(1): 34-39 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2018.01.007

芪附汤对大鼠抗阿霉素心脏毒性作用的血清气相色谱-质谱代谢组学研究

Protective effect of Qifu decoction on adriamycin-induced cardiac injury based on GC-MS serum metabolomics

药学实践杂志. 2018, 36(4): 313-317 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2018.04.006

二氯乙酸钠对氧糖剥夺损伤的BV2细胞的保护作用及其机制研究

Protective effect and mechanism of sodium dichloroacetate on BV2 cells damaged by OGD

药学实践杂志. 2019, 37(2): 146-150 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2019.02.009

关注微信公众号，获得更多资讯信息

·论著·

升陷汤及单味药材水提物对缺氧/复氧致心肌损伤的保护作用

金晓玲[1], 陈　岚[2], 张　凤[1], 黄豆豆[1], 廖丽娜[1], 陈万生[1,3]（1. 海军军医大学附属长征医院药材科, 上海 200003; 2. 空军杭州特勤疗养中心疗养三区药械科, 浙江 杭州 310002; 3. 上海中医药大学中药研究所, 上海 201203）

［摘要］ **目的**　通过观察升陷汤及单味药材水提物对离体培养的大鼠心肌细胞缺氧/复氧损伤的影响, 并对其作用机制进行初步探讨。**方法**　培养 H9C2 大鼠心肌细胞, 共分成 8 组: 空白对照组, 缺氧/复氧组(模型组), 缺氧复氧损伤后药物干预组(升陷汤全方及 5 个单味药材水提物组)。分别对心肌细胞凋亡率、心肌细胞的活力、细胞内活性氧(ROS)活性、细胞内钙离子浓度(Ca^{2+})等指标进行检测。**结果**　升陷汤全方及黄芪、知母等药材干预能明显降低细胞凋亡率、细胞内 ROS 活性和 Ca^{2+}浓度(P<0.05), 其中, 全方的作用最强。与缺氧/复氧组细胞内 ROS 活性和 Ca^{2+}浓度增加至空白对照组的 2.49 倍及 1.71 倍相比, 全方能使细胞内 ROS 活性和 Ca^{2+}浓度增加率降至缺氧/复氧组的 41.37% 和 15.20%。**结论**　升陷汤及单味药材对缺氧/复氧致心肌损伤具有保护作用, 该作用的机制可能通过抑制细胞凋亡、降低细胞内 ROS 以及 Ca^{2+}的浓度所致。

［关键词］ 升陷汤; 缺氧/复氧损伤; 心肌细胞; 保护作用
［中图分类号］ R285.5　［文献标志码］ A　［文章编号］ 1006-0111(2021)03-0240-05
［DOI］ 10.12206/j.issn.1006-0111.202006080

Protective effect of Shengxian decoction and the decoction of single herb component against myocardial injury induced by hypoxia/reoxygenation

JIN Xiaoling[1], CHEN Lan[2], ZHANG Feng[1], HUANG Doudou[1], LIAO Lina[1], CHEN Wansheng[1,3](1. Department of Medicine, Changzheng Hospital, Naval Medical University, Shanghai 200003, China; 2. Department of Drug and Equipment, Air Force Hangzhou Special Service Recuperation Center Sanatorium Area,Hangzhou 310002, China; 3. Traditional Chinese Medicine Resource and Technology Center, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China）

［**Abstract**］ **Objective**　To study the protective effect of Shengxian decoction and the single herb decoction against myocardial injury induced by hypoxia/reoxygenation. **Methods**　The H9c2 cells were cultured to establish hypoxia/reoxygenation model. Rats were divided into 8 groups: normal control group, hypoxia/reoxygenation group (model group) and treated groups (Shengxian decoction and the single herb decoction). The apoptotic rate of cardiomyocytes, the activity of reactive oxygen species (ROS) and intracellular calcium concentration (Ca^{2+}) were measured. **Results**　Compared with hypoxia/reoxygenation group, the apoptosis rate, ROS activity and intracellular Ca^{2+} concentration were significantly lower in all treated groups (P<0.05). The ROS activity and intracellular Ca^{2+} concentration was decreased by 41.37% and 15.20% in Shengxian decoction group compared to the model group. **Conclusion**　Shengxian decoction and the single herb decoction had protective effect on myocardial injury induced by hypoxia/reoxygenation.

［**Key words**］ Shengxian decoction; hypoxia/reoxygenation injury; cardiomyocyte; protection effect

1960 年, Jenning 首次提出了心肌再灌注损伤的概念[1]。心肌缺血/再灌注损伤的主要原因包括氧自由基增多、细胞内钙超载及微血管损伤等[2-3], 缺血组织细胞恢复灌注后发生的再灌注损伤(MIRI)在恢复血流的过程中常会引起心肌细胞的氧化应激损伤[4-5], 往往造成患者预后不佳[6]。

升陷汤出自张锡纯《医学衷中参西录》, 该方由黄芪、柴胡、升麻、桔梗、知母组成, 主治大气下陷之证, 临床广泛用来防治心肌缺血性疾病[7]、治疗老年慢性充血性心力衰竭[8]、治疗不稳定型心绞痛[9]、治疗青少年病毒性心肌炎[10-11]。课题组前期考察了升陷汤及各单味药对阿霉素致心肌细胞的保护作用[12], 尚未见升陷汤对心肌细胞缺氧/复氧损伤模型保护作用的报道。本实验基于经典的心肌细胞缺氧/复氧损伤模型[13], 从细胞凋亡的角度初

［基金项目］ 上海市科委(18401931600); 上海市卫健委(ZYCC2019018); 金字塔人才工程(1016)
［作者简介］ 金晓玲, 主管药师, 研究方向: 医院药学, Tel: (021)81886183, Email: xiao.lingjin@163.com
［通信作者］ 陈万生, 教授, 主任药师, 博士生导师, 研究方向: 临床药学、生药学, Tel: (021)81886181, Email: chenwansheng@smmu.edu.cn

步探讨升陷汤及单味药对心肌缺氧/复氧的作用机制。

1　材料与方法

1.1　实验试剂

纯净水（美国 Millipore 公司）、Fura-3/AM（碧云天生物技术有限公司）、生理盐水（海军军医大学附属长征医院）；0.25% 胰蛋白酶溶液（Gibco 公司）；DMEM 低糖培养基、培养液（美国 Hyclone 公司）；MTT 工作液（美国 sigma 公司）；二甲基亚砜（德国 GmbH 公司）；PBS 缓冲液（南京滴纯生物科技有限公司）；胎牛血清（美国 Gibco 公司）；DCFH-DA（碧云天生物有限公司）；Annexin V-FITC/PI 凋亡检测试剂盒（美国 BD 公司）；16% 甲醛（无甲醇，赛默飞世尔科技有限公司）；其他试剂为分析纯。

倒置荧光显微镜（重庆奥特光学仪器）；流式细胞仪（美国 BD 公司）；全自动酶标仪（美国 Multiskan MK3 公司）；CO_2 细胞培养箱（德国 Heraeus 公司）；低温高速离心机（德国 Heraeus 公司）；台式高速离心机（德国 Eppendorf 公司）；荧光显微镜（日本 OLYMPUS 公司）；二氧化碳培养箱（美国 Forma 公司）；79-1 型磁力搅拌器（江苏周庄科研仪器厂）；YJ-II 型超声波细胞粉碎机（上海新芝生物技术研究所）；海尔低温冰箱。

1.2　药物的制备

升陷汤中五味药材饮片由长征医院药材科提供。将 5 L 水浸泡升陷汤全方提取物或各单味药材 24 h 后，再煎煮，重复 3 次，将浓缩水煎煮液合并至 650 ml，干燥得提取物浸膏。其中，升陷汤组方饮片（简称药物 SXT）包括黄芪 600 g，知母 300 g，柴胡 150 g，桔梗 150 g 和升麻 100 g。SXT、黄芪、知母、柴胡、桔梗和升麻水提液蒸干后的浸膏重量分别为 431.2、187.5、89.5、45.2、43.5、28.1 g。将所有提取物分别研细，于−20°C 冰箱中保存备用。

1.3　实验方法

1.3.1　H9C2 大鼠心肌细胞株的培养

H9C2 细胞培养在含 10% FBS 的高糖 DMEM 培养液、37 ℃、5% CO_2、95% O_2 饱和湿度的恒温细胞培养箱，待细胞汇合度达到 80% ~ 90% 进行传代培养。传代时，弃去培养液，用 PBS 缓冲液洗 2 ~ 3 次后用含 0.25% 胰蛋白酶消化液消化细胞，待细胞变圆时立刻停止消化，以 1 000 r/min 离心 5 min。弃上清液，用含 10% FBS 的 DMEM 培养基重悬后，并按 1∶3 分瓶，隔天更换培养液。取对数生长期细胞进行试验。

1.3.2　模型的复制和药物干预

将心肌细胞随机分为以下 8 组：对照组：心肌细胞正常培养基培养；模型组：心肌细胞用低糖无血清培养基预孵育 1 h 后，在含 95% N_2 和 5%CO_2 的培养箱中缺氧 6 h，再在 5% CO_2 和 95% 空气饱和的培养箱复氧 1 h 造成心肌缺血损伤模型组；药物干预组：心肌细胞用低糖无血清培养基稀释的药物预孵育 1 h 后，经缺氧 6 h-复氧 1 h 处理后即为药物干预组。其中，干预药物包括 SXT、黄芪、知母、柴胡、桔梗和升麻水提液（共 6 组）。

1.4　检测指标

1.4.1　心肌细胞活力的测定

培养完成后，将对照组和模型组组以及药物干预组中取对数期生长的细胞接种于 96 孔板，调整细胞的浓度使每孔有 5×10^5 个细胞，然后向每孔中加入 20 μl MTT（5 mg/ml）工作液，孵育一段时间，后向每孔中加入 150 μl DMSO，室温条件先低速震荡让二者充分融合，然后参照 MTT 比色法试剂盒说明，在 490 nm 测定各孔下的吸光值，分别记录结果。模型组、各药物干预组与对照组的比值为细胞活力相对值。

1.4.2　活性氧（ROS）含量的变化

培养完成后，分别收集所有组中悬浮细胞，在各组细胞中加入 150 μl DCFH-DA 溶液，在 37 ℃ 细胞培养箱内避光孵育 30 min。每隔 5 min 震荡 1 次，使探针和细胞充分接触。用无血清细胞培养液将细胞洗几遍，最后用 PBS 重悬。采用多功能酶标仪检测细胞内 ROS 活性（激发波长 488 nm，检测波长 525 nm）。

1.4.3　细胞内钙离子浓度的变化

培养结束后，用 0.25% 胰酶消化离心，分别将所有组中细胞用缓冲液 PBS 冲洗，再与 10 μmol/L 钙离子荧光探针 Fura-3/AM（10）共同孵育 60 min，然后用缓冲液冲洗 2 次，最后用 PBS 重悬。将制成的标本置于倒置荧光显微镜下，用 340 nm 紫外光激发获得荧光图像，经过计算机图像处理后根据标准曲线算出细胞内钙浓度。

1.4.4　AnnexinV-FITC/PI 双染检测细胞凋亡

培养完成的细胞用不含 EDTA 的胰酶消化，离心收集悬浮细胞，2 000 r/min 离心 5 min，弃培养基；用预冷的 PBS 洗涤细胞；加入 100 μl 结合缓冲液悬浮细胞，浓度约为 1×10^6/ml；然后在细胞悬浮液中加入 5 μl Annexin V-FITC，轻轻混匀后于 4 ℃ 避光条件下孵育 15 min；再加入 5 μl PI 后轻轻混

匀于 4 ℃ 避光条件下孵育 5 min；添加 PBS 至 500 μl 并轻轻震摇均匀，于 60 min 内用流式细胞仪检测细胞凋亡率。

1.5　统计学处理方法

使用 GraphPad Prism v5.0 统计软件进行统计学分析，实验数据以（$\bar{x} \pm s$）表示，组内两两比较采用 *t*-test，当 $P < 0.05$ 时判定差异具有统计学意义。

2　结果

2.1　药物对缺氧/复氧损伤后心肌细胞活力的影响

本实验根据临床给药剂量及预实验结果，在药物试验浓度分别为 2.5、5.0、10.0、20.0、40.0、80.0、160.0 和 320.0 μg/ml 的药物浸膏时，研究全方及各单味药对心肌细胞缺氧/复氧后细胞活力的影响。MTT 结果显示：升陷汤、黄芪、知母、桔梗、升麻在 20 μg/ml 时，细胞活力最佳，因此确定上述提取物浓度组均为 20 μg/ml；由于 20 μg/ml 柴胡提取物对心肌细胞有一定损伤，经试验最终确定药物浓度为 0.3 μg/ml 时对缺氧/复氧后细胞活力无明显影响（表 1）。

表 1　升陷汤各单味药对缺氧/复氧造成的心肌细胞活力的影响

组别	终浓度（μg/ml）	MTT增殖率（%）
全方	20	18.745
黄芪	20	14.300
知母	20	11.199
桔梗	20	9.244
升麻	20	10.977
柴胡	0.3	26.512

2.2　药物对缺氧/复氧损伤后心肌细胞内 ROS 的影响

实验结果表明：心肌细胞在缺氧/复氧条件下，细胞内活性氧含量明显增加，升高至对照组的 2.49 倍（$P<0.01$，图 1），表明缺氧/复氧引起细胞内自由基损伤；给药后，除柴胡外，升陷汤全方及各单味药均能明显降低心肌缺氧/复氧致心肌损伤模型的细胞内 ROS 的荧光强度，升陷汤全方、黄芪、知母、桔梗和升麻处理组分别为对照组的 1.46、1.40、1.79、1.52 和 1.83 倍（$P<0.01$，图 1）。其中，升陷汤与黄芪作用最强，两者无明显统计学差异。

2.3　药物对缺氧/复氧损伤后心肌细胞内钙离子的影响

实验结果表明：心肌细胞在常氧下（对照组），

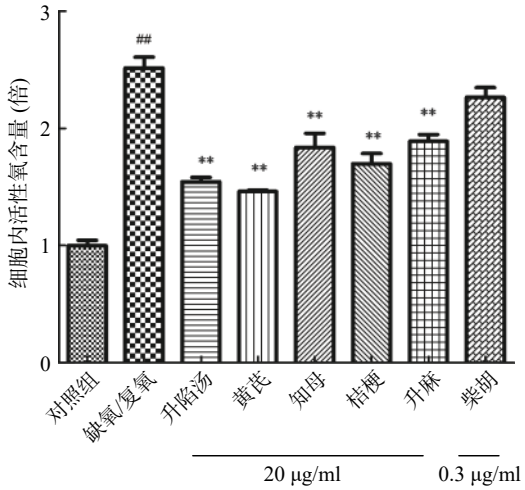

图 1　药物对心肌缺氧/复氧细胞凋亡的影响

A. 流式细胞术检测图；B.计数统计图

$^{*}P<0.05$，与缺氧/复氧组比较；$^{\#\#}P<0.01$，与对照组比较。

Ca^{2+}荧光强度较低，缺氧/复氧后，Ca^{2+}荧光强度增加（$P<0.01$，图 2），表明心肌细胞低氧/复氧时存在Ca^{2+}超载。升陷汤全方和黄芪、知母药物干预后，各组细胞内荧光强度与模型组相比，分别降低了 15.20%、23.98% 和 15.79%（$P<0.05$，图 2），表明其对低氧/复氧时心肌细胞内 Ca^{2+} 超载有抑制作用。桔梗、升麻药物处理后，上述值虽然有降低，但差异不明显。

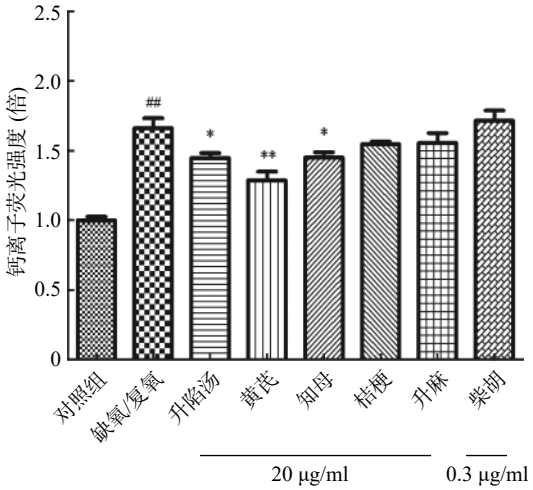

图 2　药物对心肌缺氧/复氧细胞内 ROS 含量的影响

$^{**}P<0.01$，与缺氧/复氧组比较；$^{\#\#}P<0.01$，与对照组比较。

2.4　药物对缺氧/复氧损伤后心肌细胞凋亡的影响

采用 Annexin V-FITC/PI 双染流式细胞术检测药物对缺氧/复氧损伤后心肌细胞凋亡情况。从检测结果发现，心肌细胞在常氧下（对照组），细胞凋亡较低；缺氧/复氧后，细胞凋亡增加；给药组中升陷汤全方、黄芪、桔梗可以降低细胞的凋亡率（$P<0.05$，图 3）。

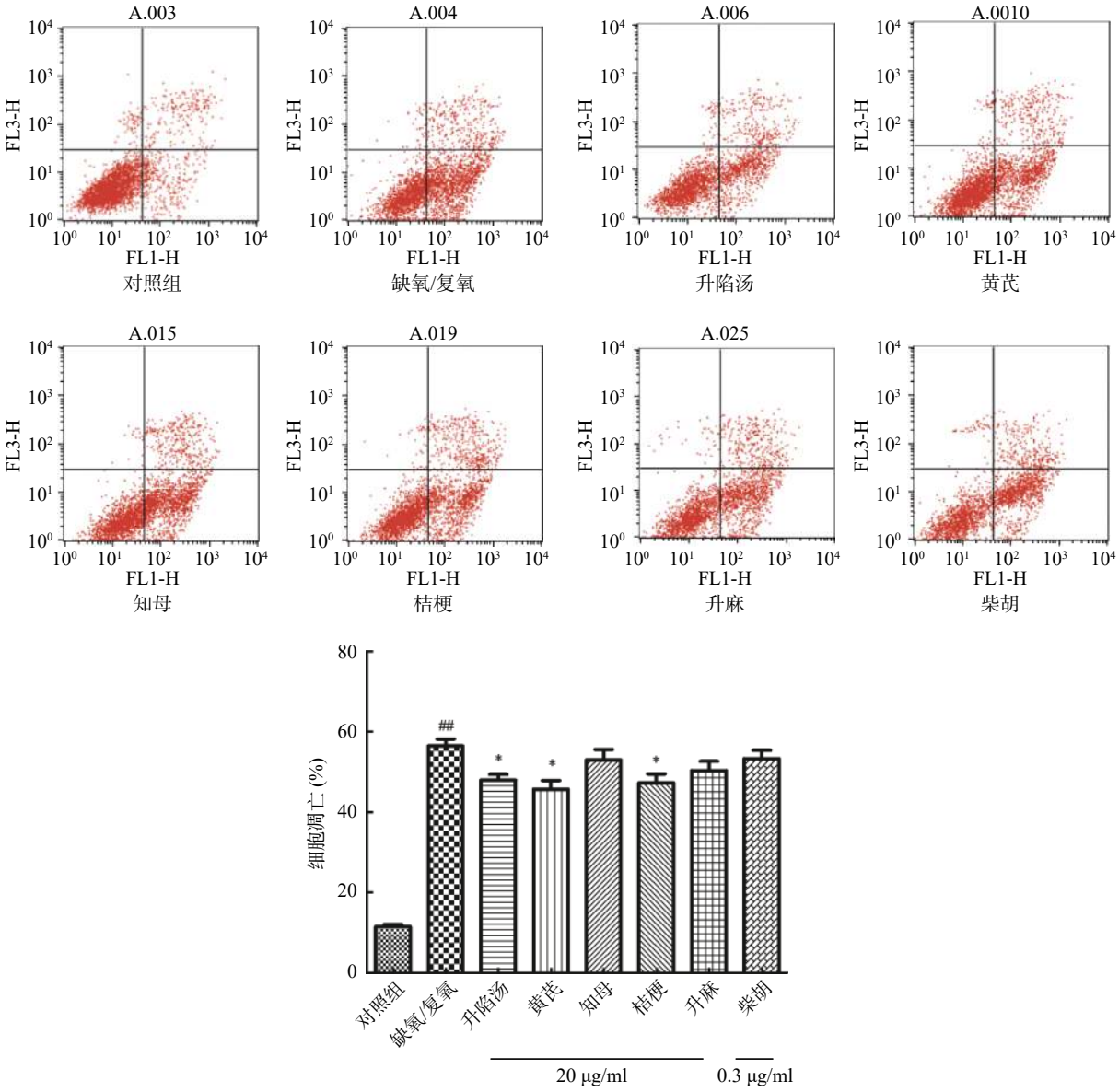

图 3　药物对心肌缺氧/复氧细胞内钙离子浓度的影响

$^{*}P$<0.05, $^{**}P$<0.01,与缺氧/复氧组比较; $^{\#\#}P$<0.01, 与对照组比较。

3　讨论

心肌细胞缺氧/复氧损伤是模拟 MIRI 的病理生理过程的经典模型，心肌细胞短时间内缺血再灌注造成的组织细胞功能代谢发生障碍及结构功能破坏加重，甚至发生不可逆性损伤的现象[14]。Ca^{2+}超载一直被认为是心肌缺血再灌注的主要机制。缺血缺氧时，心肌细胞内 Ca^{2+}超载，线粒体膜的通透性转换孔开放；再灌注恢复使得心肌细胞重新摄取 O_2，产生大量的线粒体内活性氧，进一步增加线粒体胞质内的 Ca^{2+}浓度，线粒体的氧化磷酸化进而受阻促使心肌细胞死亡[15-16]。另外，线粒体内活性氧触发氧化应激反应并加重心肌细胞的凋亡和坏死[17-19]。由此可见，细胞内 ROS 活性和 Ca^{2+}浓度是 MIRI 重要的检测指标[20-21]。

本课题组前期采用大鼠冠状动脉结扎急性心肌缺血致慢性心力衰竭模型，心肌组织病理学切片证实了升陷汤全方对心肌细胞损伤和炎症发展起到有效的控制作用，通过药理指标测定结合代谢组学研究证实了升陷汤对心衰具有显著的治疗作用。升陷汤通过改善心肌细胞损伤，减少炎症反应，增强左室射血功能，调节机体磷脂代谢和脂肪酸生物合成来发挥其保护心肌作用，从而治疗慢性心力衰竭[22-23]。本课题组通过体外细胞实验从缺氧/复氧致心肌细胞损伤角度，基于心肌细胞活力角度考察并证实了升陷汤的保护作用，可通过抑制细胞凋亡、降低细胞内 ROS 以及 Ca^{2+}的浓度实现。同时，发现各单味药也具有一定的保护作用，

但弱于全方的保护功效，进一步证实了全方治疗“大气下陷”的合理性。升陷汤全方是以黄芪补气升陷为主药，知母凉润制主药之温燥，柴胡、升麻助黄芪升陷之力，桔梗载药力上达胸中，共奏升补大气之效[24]。药材柴胡提取液在本实验中尚未发现具有保护缺氧/复氧损伤心肌细胞的作用，在一定程度上证实了其他药味配伍的合理有效性。

【参考文献】

[1] SEWELL W H, KOTH D R, HUGGINS C E. Ventricular fibrillation in dogs after sudden return of flow to the coronary artery[J]. Surgery, 1955, 38(6): 1050-1053.

[2] RANA A, GOYAL N, AHLAWAT A, et al. Mechanisms involved in attenuated cardio-protective role of ischemic preconditioning in metabolic disorders[J]. Perfusion, 2015, 30(2): 94-105.

[3] 陈福晖, 刘达兴, 容松. 心肌缺血再灌注损伤发生机制的研究进展[J]. 安徽医药, 2017, 21(12): 2145-2148.

[4] CHANG G L, ZHANG D Y, YU H, et al. Cardioprotective effects of exenatide against oxidative stress-induced injury[J]. Int J Mol Med, 2013, 32(5): 1011-1020.

[5] 宋旭辉. Decorin在脑缺血防治中的功能及机制研究[D]. 上海: 第二军医大学, 2010.

[6] 吴立玲, 张幼怡. 心血管病理生理学[M]. 北京: 北京大学医学出版社, 2009: 8.

[7] 康红钰, 张福华, 刘喜民, 等. 升陷汤对大鼠急性心肌缺血作用机制的探讨[J]. 中国医院药学杂志, 2007, 27(5): 617-619.

[8] 张万义, 邱云卿, 张万芬. 升补宗气法治疗老年慢性充血性心力衰竭疗效观察[J]. 中国中西医结合杂志, 2004, 24(1): 43.

[9] 裴天仙, 徐长庆, 李滨, 等. 槲皮素对阿霉素致小鼠心肌损伤的保护作用及其机制[J]. 药学学报, 2007, 42(10): 1029-1033.

[10] 曹洪欣, 朱海燕. 大气下陷证与病毒性心肌炎相关性机理的理论探讨[J]. 陕西中医, 2002, 23(2): 141.

[11] 曹洪欣, 朱海燕. 益气升陷法治疗病毒性心肌炎的辨治要点[J]. 中医药学报, 2002, 30(5): 18-19.

[12] 满缓, 张凤, 黄豆豆, 等. 升陷汤及各单味药对阿霉素致心肌细胞损伤的保护作用[J]. 药学实践杂志, 2019, 37(4): 304-308.

[13] THANDROYEN F T, BELLOTTO D, KATAYAMA A, et al. Subcellular electrolyte alterations during progressive hypoxia and following reoxygenation in isolated neonatal rat ventricular myocytes[J]. Circ Res, 1992, 71(1): 106-119.

[14] MIMURO S, KATOH T, SUZUKI A, et al. Deterioration of myocardial injury due to dexmedetomidine administration after myocardial ischaemia[J]. Resuscitation, 2010, 81(12): 1714-1717.

[15] MIYAMAE M, CAMACHO S A, WEINER M W, et al. Attenuation of postischemic reperfusion injury is related to prevention of [Ca2+]m overload in rat hearts[J]. Am J Physiol, 1996, 271(5 Pt 2): H2145-H2153.

[16] HAUSENLOY D J, YELLON D M. Myocardial ischemia-reperfusion injury: a neglected therapeutic target[J]. J Clin Invest, 2013, 123(1): 92-100.

[17] JIANG J T, YUAN X, WANG T, et al. Antioxidative and cardioprotective effects of total flavonoids extracted from *Dracocephalum moldavica* L. against acute ischemia/reperfusion-induced myocardial injury in isolated rat heart[J]. Cardiovasc Toxicol, 2014, 14(1): 74-82.

[18] ZHOU M J, REN H H, HAN J C, et al. Protective effects of kaempferol against myocardial ischemia/reperfusion injury in isolated rat heart via antioxidant activity and inhibition of glycogen synthase kinase-3β[J]. Oxid Med Cell Longev, 2015, 2015: 481405.

[19] MOENS A L, CLAEYS M J, TIMMERMANS J P, et al. Myocardial ischemia/reperfusion-injury, a clinical view on a complex pathophysiological process[J]. Int J Cardiol, 2005, 100(2): 179-190.

[20] MOZAFFARI M S, LIU J Y, ABEBE W, et al. Mechanisms of load dependency of myocardial ischemia reperfusion injury[J]. Am J Cardiovasc Dis, 2013, 3(4): 180-196.

[21] NEUHOF C, NEUHOF H. Calpain system and its involvement in myocardial ischemia and reperfusion injury[J]. World J Cardiol, 2014, 6(7): 638-652.

[22] ZHANG F, ZHAN Q, DONG X, et al. Shengxian decoction in chronic heart failure treatment and synergistic property of Platycodonis *Radix*: a metabolomic approach and its application[J]. Mol Biosyst, 2014, 10(8): 2055-2063.

[23] ZHANG F, ZHAN Q, GAO S H, et al. Chemical profile- and pharmacokinetics-based investigation of the synergistic property of platycodonis *Radix* in traditional Chinese medicine For *Mula* Shengxian decoction[J]. J Ethnopharmacol, 2014, 152(3): 497-507.

[24] 杨承芝, 朱爱华. 浅析张锡纯大气下陷证与升陷汤[J]. 中国中医药现代远程教育, 2014, 12(14): 116-117.

［收稿日期］ 2020-06-21　［修回日期］ 2021-01-27
［本文编辑］ 李睿旻